

UNITARY CONSTRUCTED ANALYZER ELEMENT

Patent number: JP52131786
Publication date: 1977-11-04
Inventor: CHIYAARUZU EE GOFUE; ROIDEN NERUSON
RANDO; TAI UINGU U
Applicant: EASTMAN KODAK CO
Classification:
- **international:** G01N31/22; G01N33/02; G01N33/16
- **europaean:**
Application number: JP19770047460 19770426
Priority number(s): US19760680619 19760426

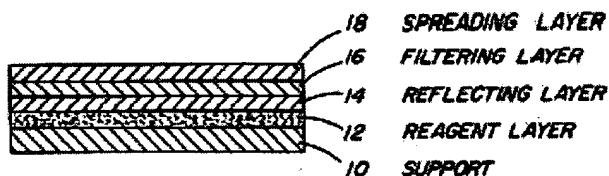
Also published as:

US4050898 (A1)
GB1582153 (A)
FR2366567 (A1)
DE2717817 (A1)
CH619782 (A5)

more >>

Abstract not available for JP52131786
Abstract of correspondent: **US4050898**

Analytical element for the detection of an agent under analysis, termed analyte, dissolved in an aqueous, proteinaceous liquid. The element has at least two superposed layers, the layers including a spreading layer and a reagent layer. The element can include a support material which is preferably radiation transmissive. To normalize transport of the analyte in and through the spreading layer, the spreading layer contains an effective amount of a surfactant, such as a non-ionic surfactant. Preferably, the amount of surfactant is between about 1% and about 15% by weight of solid contents in the spreading layer.



Data supplied from the **esp@cenet** database - Worldwide

THIS PAGE BLANK (USPTO)

⑬日本国特許庁
公開特許公報

⑭特許出願公開
昭52—131786

⑮Int. Cl.² 識別記号 ⑯日本分類 庁内整理番号 ⑰公開 昭和52年(1977)11月4日
G 01 N 31/22 // 113 A 2 6807—49
G 01 N 33/02 113 D 1 6807—49 発明の数 1
G 01 N 33/16 審査請求 未請求

(全17頁)

⑱一体型分析要素

⑲特 願 昭52—47460
⑳出 願 昭52(1977)4月26日
優先権主張 ㉑1976年4月26日㉒アメリカ国
㉓680619
㉔発 明 者 チャールズ・エー・ゴフエ
アメリカ合衆国ニューヨーク・
ブロックポート・レッドマン・ロ
ード5004
同 ロイデン・ネルソン・ランド
アメリカ合衆国ニューヨーク・

ピッツフオード・ピー・オー・
ボックス353
㉕発 明 者 タイ・ウイング・ウ
アメリカ合衆国ニューヨーク・
ロチエスター・エンディロン・
レーン72
㉖出 願 人 イーストマン・コダック・カン
パニー
アメリカ合衆国ニューヨーク・
ロチエスター・ステイト・スト
リート343
㉗代 理 人 弁理士 青木朗 外2名

明 細 書

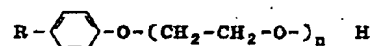
1. 発明の名称

一体型分析要素

2. 特許請求の範囲

1. 非繊維質の耐水性物質からなる等方的に多孔性の拡散層と試薬層とを有する、含蛋白水性液中のアナライトの検出要素において、前記拡散層が少なくとも1重量%の非イオン界面活性剤を含むことを特徴とするアナライト検出要素。

2. 非イオン界面活性剤が次式



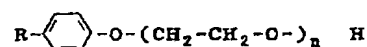
(式中Rは炭素数1ないし9のアルキル基を示し、nは1ないし70の整数を示す)で表わされる特許請求の範囲第1項記載の要素。

3. 界面活性剤が9ないし40のエトキシ単位を有する特許請求の範囲第2項記載の要素。

4. 等方的に多孔性の拡散層及び試薬層をその上に有する放射線透過支持体から成る要素であつて前記試薬層が水膨潤性でありそして前記支持体

と前記拡散層との間にさしはさまれている特許請求の範囲第1項記載の要素。

5. 拡散層及び試薬層が支持体と流体接触しており、前記試薬層の浸透性は拡散層より低くそして非イオン界面活性剤が次式



(式中Rは炭素数1ないし9のアルキル基を示し、nは1ないし70の整数を示す)で表わされる特許請求の範囲第4項記載の要素。

6. 要素中に検出可能な変化をおこす為にはアナライト、その前駆体又は反応生成物の存在下で相互作用をする物質を分散含有する親水性コロイドマトリックスから試薬層が成る特許請求の範囲第5項記載の要素。

7. 拡散層の非繊維質耐水性物質が、カプリ重合体、天然又は合成重合体から誘導される微晶質コロイド性物質及び顔料から成る群から選んだ一員からなる特許請求の範囲第6項記載の要素。

以下余白

3.発明の詳細な説明

本発明は分析すべき物質（本願明細書で以後アナライトと呼ぶ）の検出用分析要素に関し、詳しくは少くとも二つの多重層を有する、含蛋白水性液に溶解した前記物質の分析要素に関する。

水、牛乳のような食物及び生物学的液体のような液体の化学的分析は所望であるか又は必要である場合が多く液体分析を助ける種々な要素が公知である。そのような要素にはしばしばアナライト用の試薬が含まれる。この試薬はアナライトを含む液体試料と接触の際、アナライトの存在に感応して着色物質を生成するか又は別の検出可能な変化を生じさせる。最近、診断用化学分析に役立つ要素を提供する試みが多くなされている。この診断用化学分析では、血液、血清、尿素のような体液を含む生物学的液体を分析する際定量的に精度の高い結果が簡便に得られることが必要である。

溶液化学方法は、臨床研究室において特に自動分析に広く用いられてきた。しかしながらそのような方法には、溶液の取り扱いが複雑でありかつ

(3)

なある妨害成分が繊維質キャリヤ中へ移行しそして吸収されるのを防止する。

吸収性濾紙及びその他の繊維質に依存して液体試料を受容しかつ分布させる分析要素によつては精度の高い定量的結果が得られないので臨床研究試験のような適用には湿潤化学方法と比較して一般的でなかつた。本願明細書では、紙等の物質に適用する「繊維質」という用語は、バラバラの繊維、フィラメント又はストランドを意味する。

濾紙のような含浸吸収性物質を用いた診断用要素によつては不均一な試験結果しか得られないことが文献に記載されている。溶液を含浸させる際沈澱が生じることがあり、よつて吸収性マトリックス中の試薬の均一分布が損なわれることが米国特許第3050373号に記載されている。そのような繊維質吸収性物質を用いた要素では、「バンディング (banding)」と呼ばれる不均一な試験結果が生じ易い。これは吸収性物質内で試薬又はアナライトの不良な拡散が生じかつクロマトグラフする現象である。

(5)

持ち運びが困難である分析装置が必要である場合が多い。たとえば米国特許第2797149号に記載の「湿潤化学 (wet chemistry)」用分析装置は、液体の取り扱いが複雑であり、操作にそして試料間の汚染を避ける為の完全な洗浄に熟練者を必要とする。

溶液化学にかわるものとして、非溶液化学分析用の種々な多重層一体型要素が提唱されてきた。本質的に乾燥分析では、湿潤化学と比べて実質的な貯蔵及び取り扱いが可能でありかつその他の簡便さもあるけれども、種々な「乾燥」方法を行つても限られた成功しか得られずそれ故この方法は主に定性及び半定性試験に用いられてきた。

一体型分析要素の基本的変形は米国特許第3092465に記載されている。一つ以上の試薬（典型的には色素生成剤）が含浸され半浸透膜を被覆してある、濾紙のような吸収性繊維質キャリヤがそのような多重層要素に用いられる。試験液との接触に際してアナライトは膜を通過し、その膜は試験結果を損うであろう、血液細胞のよう

(4)

自動試験操作に有用な一体型分析要素は、米国特許第3368872号及び同第3526480号に開示されている。米国特許第3526480号には、ゲルマトリックス物質が試薬含有層に有用なものとして記載されているけれども、繊維質物質についても記載されかつ例証されている。繊維質物質も米国特許第3368872号に記載の試薬層に用いられている。

繊維質物質を用いた分析試験紙に関するつい最近の報告が米国特許第3791933号に記載されており、これには血液中に存在するような酵素基質及び代謝物質分析用の成分試験紙が開示されている。前記明細書には、ガラス繊維紙がプラスチックのぞき窓を横切つて分布するの増助が、^(上列の混合物)ことが記載されており、空気を取り込むことによつて生じる積層の際の問題をなくするには多孔性とするのが好ましいことが記載されている。

繊維質マトリックス材料に依存した試験紙は、前述のバンディング現象のような種々な問題を呈する。言ひまでもなく、一体型分析要素の好まし

(6)

マトリックス材料として通常提唱されてきた繊維質吸収性材料の化学的特性により、試料成分のクロマトグラフィー作用、物理的抑制、試料成分の不均一毛管移行若しくはその他の不均一浸透を生ずるから又は不望の化学的結合を生ずるから分析結果の精度が損われる。更に繊維質物質は性質が多様であるから、検出手段によりしらべることにより、分析結果のかたよりが生じ非常に精度のよい結果が得られないことが判明した。

分析要素における繊維質物質の存在と共働するバンディング及びその他の不望の影響を克服する為の種々な手段が提案されてきた。繊維質吸収性物質の含浸溶液の有用な構成成分として、セラチン及びその他のそのような物質が米国特許第3061523号及び同第3104209号に記載されている。しかしながら吸収性がより高いセラチンを含まないマトリックスと比較した場合、繊維質の試薬含有吸収性マトリックス中のセラチン及びセラチン状物質により試料吸収速度が減少することが判明した。そのような吸収性の減少に

(7)

料間の試験結果を正確にする手段として提案されてきた。この方法に従つてたとえば英国特許第3216804号、同第3368872号及び同第3526480号ではバリヤを通常要素上に含め、小滴のような適用試料を要素表面の所定範囲に閉じ込めている。通常過剰の液が試料適用後要素上に存在する。このことにより要素が一体となつている場合に取り扱いに不便さを生じることがある。更に深刻には試料を要素へ適用する時試験精度を保持せねばならない場合には試料容積を正確にせねばならない。

たとえば英国特許第2761813号、同第2672431号、同第2672423号、同第2677647号、同第2923669号、同第3814670号及び同第3843452号に記載のごとくたとえば一体型分析要素の層の間の、試薬と試料成分とのマイグレーションを意のままに促進又は回避することが必要であると考えられていた。しかしながらこのことは一般には微生物の存在を測定する要素に関して考えられてきた。

(9)

より表面液の残存がそのような試験要素上でおこり、そして試験を行う前に要素を洗浄して過剰の試料の除去を行わねばならなくなる。

要素中で試薬を固定することによつてか又は、たとえば繊維質紙のような吸収性試薬含有物質に多孔性部材を用いることによる、試料(スポット若しくはその他の方法で適用)が^{要素に}含まれている試薬に洗浄効果を及ぼす傾向を減少させる手段を要素に含ませることによつて不望のクロマトグラフィー効果を減少可能であることが米国特許第3368872号及び同第3526480号に記載されている。

米国特許第3552928号及び同第3802842号にはバンディング等の妨害の影響についても記載されている。即ちそれらにはそのような影響を除去する為に、重合体被覆及び網細工上層をそれぞれ繊維質試薬含有量と関連して用いることが記載されている。

スポット閉じ込めと呼称しうる類似含浸技法もたとえば含蛋白供試液と無蛋白対照液との間の試

(8)

そのような要素は一般に、たとえば層内の横方向の浸透を均一とするか又は均一性を保持するいかなる手段をも示さずそしてそれらは界面で隣接層との相互浸透を特徴とする混合層を必要とすることがある。

極く最近まで試料成分を受容しそしてその分布を促進する層の分析要素又はその他の手段に関する有効な提言が業界でなされていなかった。詳しくは前記分析手段とは試料成分即ち均一濃度で測定可能なアナライト、アナライト生成物又はその他の物質を受容しそして、分析反応又は同様の作用を行う共働層に対する前記試料成分の明きらかな濃度均一性を達成する手段である。吸収性の層に繊維質物質を用いた試験紙によりそのような不均一性の著るしい影響を克服することが試みられたが問題解決に成功していない。たとえば米国特許第3715192号には、試薬が含浸した好ましくは繊維質の吸収性毛管物質の表面と連絡する中空部分を提供する分析要素について記載されている。中空部分により明きらかに液体が毛管物質

(10)

中に素早く吸収されるようになりそして試薬がはげること及び試薬のクロマトグラフィーが最小限になりよつて分析下の液体に可溶性の試薬が広く使用できるようになる。

米国特許第 3 7 2 3 0 6 4 号にはアナライト又はその反応生成物に対する有効透過性が異なる複数個の区域を有し、分析結果としていろいろな限界カラー指示差を与える分析要素が記載されている。円滑かつ連続した反応が望ましいことはいうまでもないが、この米国特許第 3 7 2 3 0 6 4 号に従つて作成した要素では近似的な分析結果が得られるにすぎずその分析結果の正確さは限界カラー指示差の巾に逆比例する。米国特許第 3 7 2 3 0 6 4 号によつて作成した要素は区域間の透過性の差を小さくすれば意図する検出濃度範囲にわたり、反応の精度が上がる利益はあるものの要素が著しく複雑になる。絶えず変化する試験結果に関して均一性及び精度をいかにして改善するかについていかなる提言もなされていない。しかしながら最適化されてはいるけれども米国特許 (11)

試液へ適用する、ベルギー国特許第 8 0 1 7 4 2 号開示の一般的なタイプの要素を用いて得た分析結果は、そのような液体の蛋白質濃度により影響されることが見い出された。詳しくは蛋白質濃度の増大により、拡散層内への液体及びアナライトの移動速度及び広がりが増大されかつ拡散層を通過する際のそのような移動速度が抑制されるように思われる。所定の試料容積に関して、高濃度の含蛋白アナライト-存在供試液は最初低蛋白質濃度で示されるであろう値より低い試料中のアナライト濃度を示す試験結果を与えそしてその後低蛋白質濃度で示されるであろう値より高いアナライト濃度を示す試験結果を与える。これらの結果は、拡散層内の試料溶媒及び溶解成分の移動の抑制により生じると思われる。最初アナライト-存在試料においてアナライトと指示組成物又はその他の試薬とは緩徐に接触し次いで所定の試料サイズより幾分小さめの湿つた帯域を生成する。指示反応が実質的に完了したと認められる時、試薬層の試料影響部分のそれぞれのイングリメント単位へ大

(13)

特開 昭52-131786(4)

第 3 7 2 3 0 6 4 号の要素は伊紙及びその他の繊維質物質の使用と共働した不均一性の故にそれぞれ浸透領域内で明らかに不均一となるであろう不連続反応を生成する。

改善された多層一体型分析要素はベルギー国特許第 8 0 1 7 4 2 号に記載されている。好ましくは主に非繊維質成分から製造するそのような要素は液体試料を受容することが出来そして要素の拡散層内に試料を分布させてアナライト、他の適当な試料成分又はアナライト生成物を明らかに均一な濃度としそして濃度が正確であるので、スペクトロフォトメトリー、ダウロメトリーのよる技術を用いた自動装置によつて容易に測定可能な均一な典型的定量分析結果を与える。ベルギー国特許第 8 0 1 7 4 2 号開示の要素には、自身の活性により、変色のような、放射線により要素中で検出可能な変化を促進する反応性があるか又は他の方法で相互作用のある物質を含有する拡散層及び試薬層が含まれる。

水溶性アナライトを溶解含有する含蛋白水性供 (12)

量のアナライトが提供されそして高いアナライト指示値を生成する。正確な測定を行う為に、蛋白質差により結果が多様になるのでそれぞれの場合に蛋白質分析を行つてアナライト分析を基準化せざるを得ない。そのような操作は時間がかかりそしてアナライト測定に対し誤差を与える潜在源を増す。

非イオン性界面活性剤の有効量を、ベルギー国特許第 8 0 1 7 4 2 号に記載のごとく特にそのような要素の拡散層内に含める時非イオン性界面活性剤によりこの蛋白質による影響が阻止されることが見い出された。

界面活性剤は以前に分析要素に関連して記載されていた。リサーチアイスクローザーパブリケーションの第 1 2 6 巻第 1 2 6 2 6 項 (1974 年、10 月) にはベルギー国特許第 8 0 1 7 4 2 号に記載の型の分析要素についての記載がある。この要素はコレステロールオキシダーゼを用いて液のコレステロール含量を分析しようとするものである。そのような要素において非イオン界面活

(14)

性剤が被援助剤として使用可能であることが記載されている。いかなる濃度も特定されていないが、約0.1%がそのような目的に有用であるとベルギー国特許第1742号に記載されている。

そのような界面活性剤がコレステロールオキシダーゼの存在下においてコレステロールの完全酸化を確実にすることが重要であることも前記刊行物に記載されている。界面活性剤が、他の目的の分析要素に有用であるか又は溶解アナライトの測定を意図する分析要素に有用であるかということについていかなる提言もなされていない。コレステロールは血清に溶解しないがリポ蛋白質と会合して移動する。界面活性剤を用いてコレステロール/蛋白質コンプレックスを解離することについても米国特許第3907645号に開示されている。

界面活性剤は、グルコースオキシダーゼ、ペー
オキシダーゼ及びクロモゲンを用いたグルコース
検出法により、吸収性マトリックス中に生成され
る色素濃度を強化するのに有用な物質としても米

(15)

は必要でなくそして公知の要素を用いて行う分析に典型的に必要な特定のスポット操作又はその他の操作を行うことなくこれにより定量的な分析結果を得ることができる。更に本発明の要素により得られた結果は実質的に首尾一貫しそして本質的なバラつきがなくその結果電磁放射線を測定する自動化した手段(装置)を用いて、もし必要であるか又は所望なら誤差の危険性が最低な結果を検出可能である。

更に詳述すると本発明は多重層から成る分析要素を提供し、この要素は、要素へ適用する含蛋白液体に溶解したアナライトの存在に感応して定量的な検出可能な変化を示すことができる。液体を全体に適用することもできるしまた接触スポット又はフリードロップとして局部的に適用することもできる。局部的な適用は試料が少量でよいので好ましい場合が多い。本発明の要素には使用の条件下で流体接触する拡散層及び試薬層が含まれる。

拡散層には、この層内に適用する含蛋白液体及びその溶解成分の移動を標準化しうる界面活性剤

(17)

特開 昭52-131786(5)

国特許第3050373号に記載されている。界面活性剤は、前述のパンディング現象を除去する薬剤としても記載されている。前記米国特許第3050373号には要素の試薬含有層以外に界面活性剤を含めることに関していかなる提言もないが非イオン界面活性剤及びアニオン性界面活性剤は共に有用なものとして記載されている。米国特許第3802842号には、湿潤剤も試薬層の有用成分として記載されている。

本発明は、蛋白質含有生物学的液体(たとえば血液、血清、尿等)のような含蛋白水性液体用の新規な一体型分析要素を提供する。本発明要素は含蛋白水性液体に溶解したアナライトの分析に有用である。本願明細書で用いているように、一体型要素という表現は、望ましくは離れており、使用の際に緊密に接触する、少なくとも二つの重なり層を有する要素に関する。ある態様では、層を本質的に要素を損うことなしに分離することは不可能である。これらの要素は内部に多様な試料取り扱い機能がある。この要素を使用する際専門技術

(16)

が含まれる。標準化とは、溶媒媒質及び種々な適用試料の溶解成分の拡散層内での同等の浸透が、そのような試料間の蛋白質含量の多様性にもかかわらず得られることを意味する。簡便に測定されるそのような等価のインアックスには、分析結果が得られる速度及び着色スポットの最大径又はそれぞれの要素で生じるその他の分析結果等がある。スポット径の読みは適用する試料間の容積の差により調整する。拡散の標準化により、結果が得られるまでの速度が実質的に等しくなることが望ましくそしてスポット径の、試料の蛋白質濃度の予想範囲に対するバラつきが10%以下であるのが望ましい。約±5%未満のスポット径のバラつきが最も好ましい。人間の血清ではたとえば蛋白質は通常6%ないし8%の量存在しそして濃度は厳密に脱水した被実験者から採取した血清では12%もの高い値である。拡散層では界面活性剤濃度は、要素へ適用する試料に予想される範囲の蛋白質濃度でもつて標準化拡散を行うのに有効であるのが好ましい。

(18)

本発明要素の層を、種々な好ましい態様において放射線透過性である支持体上に保つことができる。本願明細書で用いるように、「放射線透過性」という言葉により、要素で得られる分析結果を検出するに用いる電磁放射線の有効通過が可能である分析要素の支持体又はその他の層が意味される。そのような透過性には、約200 nm及び900 nmの範囲内の一つ以上の波長の電磁放射線及び放射能により生成されるような検出可能な放射線の透過も含まれる。要素に支持体が含まれる時、試薬層を支持体と拡散層との間にはさむ。

一つ以上の溶解成分を含む適用水性液体試料及び試料内に保持される成分の溶媒又は分散媒質を、本発明要素の拡散層は内部的に分布可能である。よつて所定の時間に、試薬層に面す（即ち接近した）拡散層の表面において一つ以上の拡散成分の明きらかに均一な濃度（即ち後述するような化学的作用及び適切な検出操作により測定した明きらかに均一な濃度）が得られる。適用試料を閉じ込める必要はなくそして即座に均一となるけれども

(19)

リウム又は他の指標に関して可変であることが理解されよう。

試薬層とは、要素へ適用されるアナライトー存在液体の存在下で相互作用のある一つ以上の物質を含む層である。種々の場合にこの物質は、アナライト、アナライトの前駆体又はアナライトの反応生成物と相互作用して要素内に変化を引き起こす。

拡散層内で拡散可能な少くとも一つの試料成分は試薬層へ浸透性であるか又はそのような成分の反応生成物は試薬層へ浸透性でありそして好ましくは拡散層内で拡散可能な物質は試薬層へ実質的に均一な浸透性を有する。本願明細書で用いるように「浸透性」という言葉により、液体中に導入（溶解又は分散により分布）される物質が物質又は層に有効に浸透可能であることを示す。

均一液体を層の表面へ一様に提供する時、層内のそのような流体濃度の等価の測定（測定は層表面の種々な領域で行う）により通常実質的に等しい結果が得られるような浸透性が層の均一浸透性

(21)

前記のような明きらかな均一濃度は、有害な影響をうけることなく時間と共に変化することがある。液体試料を参照して本願明細書で用いる「成分」という言葉は、広く液体の成分を意味する。即ちそれは遊離の状態であつてもよくまた更に複雑な成分の一部である化学作用部分であつてもよい。要素へ適用した後、そのような成分をたとえば適切な化学反応等により液体中に提供することが理解されよう。種々の場合に成分をアナライト、アナライトの前駆体又はアナライトの反応生成物とすることができる。アナライトのような成分の反応生成物には、成分の分解物又はその他の反応生成物である化学物質並びにアナライト又はその他の成分の酵素反応生成物のような成分から由来するその他の生成物が含まれる。

拡散層は等方的に多孔性でかつ非繊維質である。本願明細書において等方的多孔性という言葉により、拡散層内のすべての方向に実質的に多孔性であることを示す。そのような多孔性の程度を必要であるか又は所望ならたたとえば孔サイズ、ポア

(20)

という言葉により意味される。前記実質的に等しい結果とは、たとえば幅3-10ミクロンで長さ50-100ミクロンの小穴を通して~~測定した時~~により測定した時約±10%未満で好ましくは±3-5%未満である。連続走査を用いて測定を行う場合、約16の倍率を有利に用いてスケールを拡大することができる。

本願明細書の他のケ所で記載するように、均一な浸透性は、戸紙、繊維質マツト、織布等のような繊維質物質に特徴的なものだと考えられない。分析的に意味のある結果が均一浸透性層を有さない要素においても得ることができるがたとえば要素内で濃度が不均一であつたり他の不連続（検出手段により判明）が要素内に存在する場合に結果検出の有効性が損われる。

本願明細書において一体型分析要素の拡散層及び試薬層及び／又はその他の層の間の流体接触を参照することにより、流体が液体であつても気体であつてもそのような要素の拡散層と試薬層との重なり領域を通過可能であることが確認される。

(22)

別の言い方では流体接触とは、流体の成分が流体接触している層間を通過可能であることを意味しそしてそのような能力は流体接触層間の界面に沿って均一であるのが好ましい。流体接触している層は接触可能であるけれども、それらは間にはさまれている層によつて分離することもできる。しかしながら相互に流体接触している拡散層と試薬層との間に物理的にはさまれている、要素中の層も流体接触しておりそして流体接触している拡散層と試薬層との間の流体の通過を妨げない。

層間の流体接触は、流体通過の為にともとと接触しているか又は有効に接触している層を有する要素を製造することにより可能である。亦た、最初接触しておらずそして更にたとえばさし込み、弾性のある吸収性物質、又は変形性支持体を用いることによつて、離れて位置させることが可能な層を有する要素を製造することも適当であろう。要素が最初接触していない層を有する場合、圧縮力を適用するか又は別のやり方で要素の層をその使用時に流体接触させて分析結果を得ることが必

(23)

る物質を有しそして試薬層の適切な試料成分が明きらかに均一濃度であることにより、均一な定量的検出可能な変化を要素において得ることができ

以下余白

要であることが理解されよう。

本発明の模範的な分析要素は、アナライト存在供試液を受容しそしてそれを本願明細書の他のヶ所で記載したように拡散層内に分布させることができる。前記拡散層には、その層での液体移動を標準化するに十分量の選択した界面活性剤が含まれる。そのような分布の結果、所定の時間に試薬層に面する拡散層の表面で拡散試料成分が明きらかな均一濃度となる。

要素へ適用した広範囲の試料容積に亘つてそのような明きらかに均一な濃度を得ることは可能でありそして拡散層における選択した界面活性剤の存在により分析下の液体に存在する、蛋白質濃度の適切な範囲に亘つて前記のような明きらかに均一な濃度を得ることが可能である。

試料成分は拡散層から試薬層へ提供され、そのような成分の前記のような明きらかな均一濃度の顕著な変化を本質的にいかなる瞬間にも試薬層内で起こすことなしに試薬層に浸透する。試薬層内に相互作用のある(たとえば化学的に反応性のあ

(24)

添付の図面において、第1、2及び3図はそれぞれ、本発明の一体型分析要素を示す好ましい態様の拡大断面図である。第4、5、6及び7図はそれぞれ例て記載した要素を用いて得られた分析結果を示すグラフである。第4図で示す結果は対照でありそして第5、6及び7図のそれぞれで示す結果は本発明の要素を用いて得た分析結果である。

本発明の一体型要素には拡散層及び試薬層が含まれる。拡散層は等方的に多孔性な非繊維質層であり、その中に溶解媒質及び液体試料又はその反応生成物の少くとも溶解成分を含む物質を拡散させて、試薬層に面する拡散層の表面における拡散成分の濃度を明きらかに均一とする。拡散層の厚みにより存在する濃度勾配又は別のファクターで拡散層に存在する濃度勾配をそのような均一濃度とすることが可能であることが次の記載から理解されよう。即ち前記のような濃度勾配は定量的な試験結果を得ることにとつていかなる困難も呈さずそして公知の対照方法を用いて調節することが

(25)

(26)

できる。

拡散の機構は十分には理解されてはいないが、拡散が液体試料の静圧、拡散層内のキャピラリ作用、試料の表面張力、拡散層と流体接触している層の燈心作用等のような力の組み合わせにより生じかつそれらにより限定されることが理論化されている。冒頭までもなく拡散の度合は拡散すべき液体の容積に幾分依存している。しかしながら、本願明細書に記載のごとく層における拡散により得られる明きらかに均一な濃度は実質的に液体試料容積とは無関係であることを強調しておく。従つて本発明の要案には正確な試料適用技法は必要でない。しかしながら特別な供試液容積を用いることは、好ましい拡散時間等の理由により望ましいことがある。本発明要案により、拡散層の都合のよい大きさの領域（たとえば径約1mmの領域）内に完全に採取されうる非常に小容積の試料を用いて定量的な結果を得ることができるので、液体試料適用の後過剰の水分を要案から除く必要はない。更に、拡散層内で拡散がおこりそして拡散物質は

(27)

及び／又はゼラチン層の底表面で明きらかな均一濃度を得られる。「実質的に均一な濃度」により、最大値及び最小値が平均濃度から約±10%以下しか離れていない値の、スポットを横切つた濃度（周囲は除く）が意味される。本発明の種々な好ましい態様において、濃度又はその他の検出可能な結果の変化範囲は約±5%以下でなければならぬ。周縁効果（edge effect）により、非特徴的な濃度勾配がスポット周縁に生じるとしても分析結果に何ら影響を及ぼさない周縁地帯はスポット間で差があるがスポット全体の約20%を越えない値が普通でありそしてつと低い値であることもある。

前述のごとく拡散層は等方的に多孔性の層である。そのような層を種々な成分を用いて製造することができる。ある態様では粒状物質を用いてそのような層を製造することができる。そのような層は粒子間の相互連絡空間によつて等方的に多孔性となる。分析下の試料成分に対し好ましくはすべて化学的に不活性である種々な型の粒状物質を

(29)

特開 昭52-131786(8)

明きらかな実質的な横方向静圧を受けることなく流体接触している試薬層へ提供されるので、先行技術の分析要素を用いてしばしば見られたリング（ringing）問題は生じない。拡散層は拡散層が流体接触している試薬層に面する単位表面積あたりに拡散成分に関して明きらかな均一濃度を生成すればよい。ある特別な層が拡散に適しえるかどうか測定する簡便方法にはアンシトメトリー又はその他の分析方法がある。前記方法は、試薬層又はその他の協働層の適切な表面を走査して、拡散成分又は検出可能な生成物の見掛け濃度を拡散成分の濃度に基づき測定する方法である。そのような適当な試験の例が米国特許第3992158号に記載されている。

溶媒又は分散媒質の実質的な蒸発の前に、幅約5ミクロン、長さ100ミクロンの孔を有するアンシトメーターにより走査する時、米国特許第3992158号記載の試験要素が、好ましくは実質的に均一な色素濃度の十分限定された層色スポットを示す場合に、拡散がおこりそして試験層

(28)

用いることができる。二酸化チタン、硫酸バリウム、酸化亜鉛、酸化鉛等のような顔料は有用でありそしてケイソウ土及び天然又は合成重合体から由来する微結晶コロイド性物質も有用である。そのような微結晶物質は、「ジャーナルオブポリマーサイエンス、第2巻、第481-498頁、1967年」に発表された表題が「コロイド性高分子現象、パートII、重合体の新規な微結晶、O.A. バティスタ（Battista）等著」に記載されている。本発明に使用するに十分なコロイド性物質にはアピセル®という商品名でPMC社から販売されている微結晶セルローズがある。樹脂ビーズ又はガラスビーズのような均一サイズの球状粒子も使用可能でありそしてそれらは選択的通過のような均一な孔が有利な場合に特に望ましい。選んだ粒状物質がガラスビーズ等の場合のように粘着性がない場合には、それ进行处理して接触箇所て互いに粘着性の粒子を得ることができよつて等方的に多孔性の層の形成が容易になる。例えば適切な処理は次のようにして行うことができる。即ち非粘

(30)

着粒子を、親水性コロイド（たとえばゼラチン又はポリビニルアルコール）の溶液のような薄い粘着層で被覆しそして層中で相互接触するようにさせる。コロイド被覆が乾燥した時、層はもとの姿を保持しておりそしてその成分粒子間の開放空間ももとのままである。

それ自体等方的に多孔性である必要ない粒状物質に替わるものとして又はそれに加えて、拡散層を粒状又は他の形状の等方的に多孔性の物質を用いて製造することができる。この等方的に多孔性の物質はカプリ（blush）重合体から製造した組成物のような重合体状の組成物とすることができる。

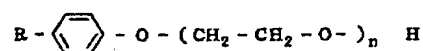
等方的に多孔性重合体組成物を製造するに有用なその他の方法には、多孔性泡を生成する為のガス若しくはその他の膨潤可能な構成成分の使用又は溶解して孔を生成する溶解性固体の重合剤での使用に関する方法がある。

カプリ重合体（即ち沈殿重合体）から成る層は特に望ましくそしてそれは、重合体を二つの液体

(31)

これらの多くの例が、アルフレッド（Allured）出版社による北アメリカ1974年出版のMcCutcheon著“Detergents and Emulsifiers”（「洗剤と乳化剤」）に記載されている。

好ましい界面活性剤には、次の式1



（式中Rはたとえば炭素数1ないし約9のアルキル基を示しそしてnは約1ないし約70の整数を示す）で表わされるような、アルキルフエノキシポリエトキシエタノールのようなアルカリポリエーテルがある。たとえばRがオクチル基又はノニル基である、式1で表わされるオクチル-及びノニルフエノキシポリエトキシエタノールのようら広範囲の前記のような界面活性剤が有用である。ある好ましい態様ではRはオクチル基を示しそしてnは約9ないし約40、非常に好ましくは約40の整数を示す。水溶性界面活性剤が好ましい。しかし、特に界面活性剤の溶液を拡散層形成組成物中へ導入するか又は層自体へ導入する場合に有

(33)

特開昭52-131786(4)の混合物に溶解させることにより基体上に生成させることができる。前記液体の一方は低沸点の重合体にとつて良好な溶媒でありそして他方の液体は高沸点でありそして、重合体にとつて溶媒ではないか又は少くともその不良な溶媒でしかない。そのような重合体溶液を次いで基体上に被覆しそして制御条件下で乾燥する。低沸点溶媒はすみやかに揮発しそして被覆は、不良溶媒であるか又は溶媒でない液体中で厚くなることができる。適切な条件下での蒸発につれ、重合体は等方的に多孔性な膜として生成する。多くの異なる重合体を単独でか又は組み合わせて、本発明に用いる等方的に多孔性のカプリ重合体拡散層製造に用いることができる。それらの代表的なものには、ポリカーボネート、ナイロンを含むポリアミド、ポリウレタン及び酢酸セルロースのようなセルロースエステルがある。

本発明に従つて拡散層には、その中での液体移動を標準化するに有効な一つ以上の物質が含まれる。種々の非イオン界面活性剤が有用であり、そ

(32)

機溶媒可溶性のものも有利に用いることができる。

使用の際、拡散層内の拡散を標準化するに有効な量の界面活性剤が層内に適切に含まれる。前記の量は通常少くとも1%であり、好ましくは約1ないし約15%である。特にことわらない限り、本発明範囲内で用いるパーセント濃度は、指定物質が位置する層内の総固形分の重量に対するパーセントとして示す。好ましくは拡散層中の界面活性剤濃度は約1ないし約10%であり、そしてより好ましくは約1ないし約6%である。界面活性剤濃度計算の際、界面活性剤組成物中の活性のない成分に関して調整をせねばならない。界面活性剤濃度を適用量であらわすと通常約1.0ないし約6.0 g/m²である。

界面活性剤により拡散が標準化される様式は十分に理解されていない。しかし有効量の界面活性剤が水性液体試料中で蛋白質を水和する水量を減少させることができる、その結果大量の試料水及び溶解アナライトが拡散層及び試薬層の双方にすみやかに浸透可能であると思われる。すみやかな

(34)

浸透により指示反応の速度が速くなりそして要素内での等しい大きさの試料濃潤領域の形成が促進される。

本発明の要素中の試薬層は、拡散層内に拡散可能な物質又はその反応生成物へ浸透性でありそしてそれが適切な時場合によつては多孔性である。本願明細書で用いるように「浸透性」という言葉には、多孔性、膨潤性又はその他の特性から生じる浸透性という意味が含まれる。相互作用のある物質が分布（即ち溶解又は分散）しているマトリックスを試薬層に含めることが出来る。米国特許第3992158号に本発明の要素に使用するに適する試薬層に関する記載がある。

放射線検出に影響する光学的性質又はその他の性質にも幾分依存して所定の例示では試薬層マトリックスを用いる。

試薬層は結果を検出する操作を妨害するものであつてはならない。要素製造の間にたとえ被検手段によるような方法によつて隣接層を適用する時それと両立しうる物質を選ぶことも必要である

(35)

な変化を与える相互作用のある物質は指示薬と呼ばれる。共働作用をして要素中に検出可能な変化を与える、少くとも一つ以上の相互作用性物質を含む多数の物質を一括して指示薬組成物と呼ぶ。

酸化可能な基を有しかつ検出可能なスペシーズを提供しうる色原体物質又は組成物としてはある種の染料形成物質又は組成物がある。ある態様では酸化形のものがもとの形又は還元形のもととカップリングして染料になる化合物により染料が形成される。この型の化合物は周知でありそしてたとえば「写真方法の理論 (The Theory of the Photographic Process)」、ミースアンドジエームス編集、1966年の特に第17章に記載されている。別の態様では、ロイコ染料を酸化して対応する染色形態を付与することにより検出可能なスペシーズ（染料）を得ることが出来る。米国特許第3880658号記載の非安定化クロム酸化合物は本発明の実施に好ましいと考えられる。更に別の態様では、フェノール基又は活性メチレン基を含むような発色剤との酸化縮合を受けうる酸

(37)

う。多くの場合に本願明細書に記載のような明らかな濃度の均一性を拡散層内で得ることを容易にする為に、拡散層自体よりも浸透性の低い試薬層を有することが望ましい。相対的浸透性は周知方法により測定することができる。

本発明要素の好ましい態様では、試薬層中の相互作用性物質は要素が感応するアナライト物質と相互作用する。その他の態様では相互作用性物質は、用いる分析機構に従つてアナライトの前駆体又は生成物と相互作用することが出来る。本願明細書において「相互作用性」という言葉により、添加、陽子化、分解等のような化学的反応性、酵素基質コンプレックス生成におけるような活性、酵素反応の結果として生ずるような活性があること並びに、試薬層のような要素内に放射線により検出可能な変化（即ち光又はその他の電磁放射線の適切な測定により検出可能な変化）を生成又は促進しうるその他の形式の化学的又は物理的相互作用があることが意味される。

適切な相互作用に基づき、要素に直接検出可能

(36)

化可能な化合物をそのような発色剤と共に含む組成物を提供することにより検出可能なスペシーズが付与されうる。数多くの自動発色化合物を含む広範囲のそのような発色剤はミースアンドジエームス編集による前述のような文献及び「感光性システムコーサー著、第215-249頁、1965年」のような文献に記載されている。

本発明の一体型分析要素製造の際、層を前もつてバラバラに製造しそしてその後それらで完全な要素を構成することができる。層は使用前に積層することもできるしまた要素の使用時に流体接触させるまで単独層として保持することもできる。前記のようにして準備した層の表面を、典型的には溶液又は分散液により被覆しそして乾燥した層をそこから物理的にはがすことができる。しかしながら何回ものはがし及び積層工程を繰り返すに依り慣用方法では最初の層をはがされた表面又は支持体上に被覆し、そして所望ならその後前もつて被覆した前記表面又は支持体上を順次層で直接被覆する。有用な被覆方法及びそれによつて製造され

(38)

る層は米国特許第3992158号に記載されている。

使用の際に適切である浸透性及び放射線透過性に加えて試薬層は、本発明の一体型要素での分析結果検出におけるぶち又はその他のノイズとして明きらかとなるか又はそれらの原因となる特性が実質的にないことが望ましい。紙のような繊維質物質を透過性媒質として使用する時みられることがあるが、試薬層内のたとえば色若しくは構造のむらにより検出エネルギーの不均一な反射又は透過がおこり有利でない。更にフィルター及びその他の紙のような繊維質物質は一般に全体に亘つて浸透性でありそしてそれらは典型的には広範囲に亘る浸透性を示すことが可能であるがたとえば繊維の寸法及び空間のような構造的変化に基づき、適切な均一な浸透性は示すことができない。そのような理由によりそして更に前述に記載の理由により、そのような物質は本発明要素の試薬層又は拡散層に好ましくない。本願明細書に記載のごとく、拡散層及び試薬層は共に非繊維質物質から製

(39)

た。しかしながらその他の厚さも許容可能でありそしてそれらはある要素にとつて望ましいものでありえる。

等方的に多孔性の拡散層を製造する時、ポイドポリウムが総体積全体の少くとも約25%であることが有用でありそして50-95%が望ましい。多孔性拡散層のポイドポリウムの多様性を有利に用いて、拡散層の総浸透性又は試料が拡散するのに必要な時間のような要素の特性を改変することができる。たとえば適切なサイズの粒状物質を選定することによつてか又は等方的に多孔性の拡散層にポリマー重合体を用いる時溶解若しくは乾燥条件を変化させることによつて層内のポイドポリウムを変化させることができることが理解されよう。そのような層のポイドポリウムは、「ジャーナルオブザナショナルカンサーインスティテュート、チャークレイ(Chalkley)著第4巻、第47頁、1943年」に記載の統計的方法のようを種々な方法及び層の実際の重量と層の体積と等しい体積の固体物質の重量とを直接秤量しかつ

(41)

造するのが好ましい。もちろんのことであるが繊維質物質と非繊維質物質とを適切な組み合わせで用いることも可能である。

拡散層はまた溶液又は分散液で被覆することにより製造することができる。拡散層が少くとも使用条件下において試薬層と流体接触するように前述のごとく要素の拡散層及び協働層は重なり合わさつた関係にある。拡散層製造に有用な物質は本願明細書に記載のごとく広範囲に亘つておりそして前述の界面活性剤に加えて、分析下の液体の水媒質又はその他の溶媒媒質に耐性のある、即ち実質的にそれらに不溶性でありかつそれらと接触した際実質的に非膨脹性である多数の物質が通常その範囲に含まれる。層の乾燥厚の約10-40%の膨脹が標準的である。拡散層の厚さは、簡便にかつ清潔に操作を行う為に拡散層が吸収できなければならぬ試料容積に幾分依存しそして層のポイドポリウムにも幾分依存する。層中に吸収される試料量にも影響する。乾燥厚が50ミクロンないし300ミクロンの拡散層が特に有用であつ

(40)

それらの割合を決定することにより適切な精度で計算することができる。前記固体物質は層の成分から構成されており比較可能である。言ひまでもないことであるが、ポアサイズは、試薬層に望ましく付与されている試料成分の拡散を可能にするに十分でなければならない。

以下余白

本願明細書において前述のように、一体型分析要素は自己支持性であるか又は支持体上に被覆することができる。有用な支持体物質には、酢酸セルロース、ポリ(エチレンテレフタレート)、ポリカーボネート及びポリスチレンのようなポリビニル化合物等のような種々な重合体物質がある。要素がなんであれその支持体は意図する結果検出の様式と矛盾するものではない。好ましい支持体としては放射線透過性支持体物質がある。分析結果を支持体を通して放射線により波長検出する場合に、非蛍光測定の場合に必要であるよりも若干広い範囲に亘つてまたは検出に用いる蛍光物質の吸収スペクトル及び発光スペクトルにおいて支持体が光透過性であるのが望ましい。一つ又はそれ以上の狭い波長の範囲に亘つて光透過性でありそして近傍の波長において光透過性でない支持体を有することも望ましいであろう。たとえば適切な吸収特性を有する一つ以上の着色剤を支持体に含ませるか又はそれで支持体を被覆することにより前記のような支持体を得ることができる。

(43)

な顔料は反射性でありそして反射層に有利に用いることができる。かぶり重合体も適切な反射物質を構成することができる。顔料拡散層は、拡散層でもありえるかぶり重合体層がこの目的に有用であると同様にこの目的に有用でありえる。ある好ましい態様では、かぶり重合体層に顔料をも組み込み拡散及び/又は反射を強化することができる。かぶり重合体と共に層に含まれる顔料の量は非常に可変であり、そしてかぶり重合体1重量部に対し約0.2ないし約10重量部の顔料が好ましく、かぶり重合体1重量部に対し約2ないし約6部が最も好ましい。

化学反応又はその他の方法により用いる分析下でそのような分析に替在的に有害である物質を不活性にしうる、物質を要素の層に含めることも望ましい。

色合い、光学的強度又は蛍光の変化のような、本願明細書に記載の要素に生ずる変化の検出を容易にする為に、要素に、相関的な存在又は不存在により分析結果を特徴づけるその他の物質の反応

(45)

特開 昭52-131786(12)

要素に支持体を含める時、試薬層を通常、支持体と拡散層との間にさしはさむ。拡散層は要素の一番外側にあることが多い。

本発明一体型分析要素のある層の成分及び層配置は意図する要素の用途に依存する。所望なら要素に多数の拡散層を含めることができ、拡散層のそれぞれは拡散性及び透過能に違いがあるものとしてすることができる。また拡散層により付与される抑制に加えて物質の輸送に関する抑制が要素内に必要な場合、フィルター又は透析層を要素の適切な位置に含めることができる。

リフラクシヨンラジオメトリー(たとえばリフラクシヨンフォトメトリー又は同様の方法)により結果の検出を容易にするような、場合に上つては検出放射線吸収性の、一つ以上の反射性層を要素内に含めることも望ましい。そのような反射性はたとえば拡散層としても働く層によつても付与可能であるしまた、要素内でその他の機能を有さない付加の層によつても付与することができる。二酸化チタン、酸化亜鉛及び硫酸バリウムのように

(44)

生成物を受容する層を含めることが望ましい。そのような層(便宜的にレジストレーション層と呼ぶ)は試薬層と流体接触するのが望ましくそして反射層及び/又は光線を通さない層によりそれと試薬層とを分離して種々な放射線測定方法により結果の検出を容易にすることができる。レジストレーション層は望ましくは放射線透過性でありそして試薬層に有用であるような親水性コロイドを含むことができる。更に染料が要素中で生成する場合、レジストレーション層にカラー写真フィルム及び紙に有用であるような染色用の媒染物質を含めてもよい。

本発明の分析要素は、臨床化学の分野ばかりでなく化学的研究及び化学方法制御実験室において、広範囲の化学分析の実施に適用することが出来る。それらは血液、血清及び尿のような体液の臨床試験に適している。なぜならこの分野では多くの反復性試験が頻繁に行われそして試料採取した後ただちに試験結果を必要とする場合が多いからである。本発明の分析要素で血液を分析する際、先ず

(46)

血液細胞を遠心分離のような手段によつて血清から分離しそして血清を要素へ適用する。しかしながら、血液全体を要素へ直接適用しても血液細胞は濾過層により濾過されるので、特にリフラクシヨンスペクトロメトリーによる分析方法を用いて要素中に生成した反応生成物の量を測定するか又は別の方法で分析する場合にそのような分離を行う必要がない。細胞が検出放射線をさえぎらないように支持体及びレジストレーション層を透過しそして放射線封鎖層又はその他の反射層から反射される光線を用いて反射技法により分光測定分析を行う場合に、細胞が検出放射線をさえぎらないので要素上にこれらの細胞が存在してもこの分析方法の妨害とはならない。本願明細書記載の一体型分析要素の特に重要な利点は、それらはぬぐい去るか又はその他の試料除去工程を行わなくても血清又は血液全体の分析に使用可能であることである。

目的とする分析に応じ種々な分析要素を本発明に従つて製造可能であることは言うまでもない。所望の幅の細長いテープ、シート又は小さいチップ

(47)

それぞれの層が果たす特定の機能に必要なような等方的多孔性及び／又はポアサイズを有するかぶり重合体とすることが出来る。拡散層 18 と試薬層 12 は流体接触している。第 2 図に示す本発明の他の態様では、分析要素は拡散層 24、試薬層 22 及び支持体 20 から成り、支持体 20 は拡散層 24 と流体接触している試薬層 22 を支える。この拡散層 24 は濾過機能も助けそして支持体 20 を通したリフラクシヨンスペクトロメトリー検出の適切な反射背景をも提供する。これとは異なり層 24 を非反射性にしそして検出を透過方式で行うことが出来る。層 24 をたとえば、層 22 を被覆即ち層 22 上に積層する等方的に多孔性のプラッシュ重合体とすることが出来る。第 3 図は本発明の他の態様を示したものであり、分析要素は、支持体 30、試薬層 32、半透過性膜から製造可能な透析層 34 及び等方的に多孔性のかぶり重合体層のような拡散層 36 から成る。前記拡散層 36 は拡散及び濾過機能を助けそして支持体 30 を通したリフラクシヨンスペクトロメトリー

(49)

等の種々な形状に要素を形成することができる。またこれらの要素は同一テストを一回若しくはそれ以上又は異種のテストを多数回行えるようにすることができる。後者の場合は一枚の支持体を共通に使用しこれに一つ又はそれ以上のストリップ又はチャンネルを設けることが望ましく、これらストリップ又はチャンネルのおのおのは場合によつては組成を異にし種々な所望の試験を行うのに適する複合要素を形成することができる。

本発明の模範的な要素には、添付の図面に示す要素がある。第 1 図に示す分析要素は放射線透過支持体 10、その上の被覆である試薬層 12、たとえばリフラクシヨンスペクトロメトリーによる分析結果検出の適切な背景を提供する反射層 14、濾過層 16 及び試料拡散層 18 から成る。検出波長で適切に透過性である場合に支持体を通して検出を行うことが出来る。試薬層 12 は、ゼラチンのような結合剤中の一つ又はそれ以上の試験試薬の溶液又は分散液から成るものとすることができる。一方層 14、16 及び 18 はそれぞれ

(48)

トメトリーの適切な背景をも提供しうる。拡散層及び試薬層は流体接触している。

本発明要素は、米国特許第 3992158 号記載の分析操作と同一の方法の操作に使用可能である。

分析要素に関する例を本発明の一層の理解の為に以下に記載する。

以下余白

(50)

例 1 - 対照

対照の一体型分析要素を製造する為に透明なポリエチレンテレフタレート支持体を乾燥後下記の成分を含む試薬層で被覆した(適用量は支持体の平方メートルあたりで示す)。

ゼラチン	21.5 g/m ²
1-ナフトールスルホン酸 ナトリウム塩	1.08 g/m ²
4-アミノアンチピリン	0.54 g/m ²
グリセリン	2.15 g/m ²
パーオキシダーゼ	7.000 単位/m ²
グルコースオキシダーゼ	6.900 単位/m ²
界面活性剤 10G [®] *	0.39 g/m ²

試薬層を、乾燥後下記の成分を含む拡散層で被覆した(適用量は支持体の平方メートルあたりで示す)。

酢酸セルロース(ブラツシュ)	6.6 g/m ²
二酸化チタン	46.0 g/m ²
ポリウレタンエラストマー (イースタン [®] 5715:B-F, グッドリッチ社)	1.38 g/m ²

(51)

及び総グロブリン 3.0 g% (アルブミン/グロブリン比=1.4) が得られる。

510 μm におけるデンシトメーターの読みにより追跡を行つた。拡散層によりデンシトメーター読みの為の反射背景が提供された。8 分間温置した後それぞれの着色スポットの径を測定した。少くとも二つのその他の試料のセットに同様にスポットとしそして反射濃度及びスポットサイズを測定した。それぞれの場合に D₅ として測定した色素生成の最初の速度は、蛋白を含有しないグルコース水をスポットとした要素試料の方が早かつた。更にグルコース水をスポットした要素の色素スポット径は、パーサトール[®] 製剤をスポットした要素試料に生成した色素スポットサイズより約 20 % 大きかつた。この二試料のそれぞれに関して 8 分間に亘つて生成した濃度を図面の第 4 図に表示した。

例 2

(53)

特開 昭52-131786(14)

得られた要素の最初の試料に 400 呼分のグルコース水溶液 10 μl をスポットしそして要素の二番目の試料に 400 呼分のグルコースのパーサトール[®] ** 溶液 10 μl をスポットした。スポットした要素の試薬層に生成した染色スポットの反射濃度を 8 分間追跡した。その間要素試料を 37 °C に保持した。

* 界面活性剤 10G はグリシドール単位 10 を有する p-イソノニルフエノキシポリグリシドールエーテルであつてオリンマチエソン (Olin Mathieson) 社の製品である。

** パーサトールは人間の人工血清であり、成人の平均レベルにおいて 14 の構成成分に関して標準化してある。これはワーナーランバート社の部門であるジエネラルダイアグノスティックスにより凍結乾燥粉末として供給される。この粉末の一つのパッケージを脱イオン水に溶解した時、表示によればグルコース 81 呼分、アルブミン 4.1 g%

(52)

約 9-10 のエトキシ単位を有する非イオン性オクチルフエノキシポリエトキシエタノール界面活性剤 3.2 g/m² (5.6 %) をも拡散層に含める以外は例 1 に記載のごとく要素を製造した。界面活性剤はロームアンドハース社により販売されているトライトン[®] X-100 であつた。この要素に例 1 に記載のごとくスポットし測定した。グルコース水をスポットした要素とグルコースのパーサトール[®] 溶液をスポットした要素との間に生成した濃度の差は、例 1 の対照要素間の濃度差より実質的に少なかつた。スポットした要素(例 2 に記載のごとく製造)中で生成した濃度を示すグラフを図面の第 5 図に示した。

例 3

トライトン[®] X-100 を適用量 6.4 g/m² (10.5 %) で拡散層に含めた以外は例 2 に記載のごとく分析要素を製造し、スポットしそして測定した。この要素の試験試料中で生成した濃度は、例 2 に記載の要素の対応試料に生成した濃度と同様でありそしてこの例に記載のごとくして製造した要素

(54)

のスポットした試料中で生成した濃度を示すグラフを図面の第6図に与えた。水に溶かしたグルコース及びパーサトール[®]に溶かしたグルコースにより、この例の試料上で生成したスポット間の径の差は約9%であつた。

例4

トライトン[®] X-100を適用量12.88 g/m² (19.0%)で拡散層に含めた以外は例2に記載のごとく分析要素を製造し、スポットしそして測定した。この要素の試験試料中で生成した濃度即ち水に溶かしたグルコースをスポットした試料とパーサトール[®]に溶かしたグルコースをスポットした試料を比較した濃度は例2及び3に記載のごとく製造した試料中で生成した濃度程類似してゐなかつた。この例に記載のごとく製造した要素のスポットした試料中で生成した濃度を示すグラフを図面の第7図に示した。染色スポット径(水に溶かしたグルコース及びパーサトール[®]に溶かしたグルコースにより生成したスポットを比較)の差は約12%であるように思えた。しかしスポット

(55)

7-ヒドロキシ-1-ナフトール	0.656 g/m ²
4-アミノアンチピリン・HCl	0.635 g/m ²
5,5-ジメチルシクロヘキサンジオン-1,3	0.215 g/m ²

この試薬層上に下塗り層として0.323 g/m²のポリ-N-イソプロピルアクリルアミドを被覆した。

下塗り層の上を、乾燥の後下記に示す成分を含む拡散層で被覆した(適用量は支持体の平方メートルあたりで示す)。

TiO ₂	55.73 g/m ²
酢酸セルロース(プラッシュ)	7.8 g/m ²
イースタン [®] 5715	2.29 g/m ²
ポリエチレングリコールのオレイルエーテル	0.78 g/m ²

得られた要素の最初の試料に400mgのグルコース水溶液10μlをスポットとしそして要素の二番目の試料に400mgのグルコースのパーサトール[®]溶液10μlをスポットした。

6個の付加の試料セット(例6-12)を、具

(57)

ト縁の不規則性によりこの測定が幾分困難であつた。

例5-12

前記例の鎖長より長いポリエトキシ鎖及び短いポリエトキシ鎖有するアルカリフエノキシポリエトキシエタノールを用いて有益な結果が得られた。要素の拡散時間、スポットサイズ及びスポットの性質に関するそれらの影響を示す為に、試料を以下の操作に従つて製造した。

対照(例5)として透明なポリエチレンテレフタレート支持体を、乾燥の後下記に示す成分を含む試薬層で被覆した(適用量は支持体の平方メートルあたりで示す)。

セラチン	21.52 g/m ²
ポリエチレングリコールのオレイルエーテル	0.646 g/m ²
界面活性剤10 [®]	0.387 g/m ²
グリコースオキシダーゼ	6886 単位/m ²
パーオキシダーゼ	6994 単位/m ²
グリセロール	2.152 g/m ²

(56)

なる非イオン界面活性剤をそれぞれの試料のセットの拡散層に含めた以外は例5に記載のごとく製造した。これら界面活性剤は次の数のエトキシ単位を有する例2-4に記載したのと同様をオクチルフエノキシポリエトキシエタノールであつた。

例	量、重量%	ポリオキシエチレン鎖長, n
6	4.1% (2.87 gm/m ²)	1
7	" "	3
8	" "	7-8
9	" "	9-10
10	" "	12-13
11	" "	30
12	2.9% (2.01 gm/m ²)	40

結果を表1に示した。それぞれの場合、拡散時間及びスポット帯域の比は対照と比較して改善されていた(なお、拡散時間は小さい程すぐれており、スポット帯域比1に近い程すぐれている)。

以下余白

(58)

表 1

例	拡散時間		スポット帯域比		スポットの性質*	
	水溶液	血清	血清	水溶液	水溶液	血清
5(対照)	7.2	9.1	.726	1	2	
6	3.9	6.9	.795	2	1	
7	2.6	5.1	.881	1	1	
8	2.4	4.6	.901	2	1	
9	2.1	4.0	.855	1	2	
10	2.2	4.4	.896	2	2	
11	1.8	3.2	.910	2	3	
12	2.0	3.5	.881	2+	3	

* 0 = 不可

1 = 可

2 = 良

3 = 極めて良

4 = 最優

例 1 3

2.0 1 g/m^2 (2.9 重量%)、2.8 5 g/m^2 (4 重量%) 及び 3.4 g/m^2 (5 重量%) の量の界面活性剤をそれぞれ用いそして 800 ㎍ のグルコースを用いて例 1 2 を反復した。4 重量% の量に

(59)

1 8 , 2 4 , 3 6 … 拡散層、1 2 , 2 2 , 3 2

… 試薬層、1 0 , 2 0 , 3 0 … 支持体。

特許出願人

イーストマン コダック カンパニー

特許出願代理人

弁理士 青 木 明

弁理士 西 館 和 之

弁理士 山 口 昭 之

より最も望ましい性質のスポットが得られることが見い出された。被覆のすべてその他の性質は、例 1 2 に関して表 1 に示したものと本質的に等しかった。

例 1 4

n が約 70 のポリオキシエチレン鎖長を有するオクテルフエノキシポリエトキシエタノールを用いた以外は例 1 2 を反復した。例 1 2 の結果と同様な結果が得られた。

本発明をその好ましい態様を参照して詳細に説明したが本発明の精神の範囲内でその改変が行いえることが理解されよう。

4. 図面の簡単な説明

第 1 , 2 及び 3 図はそれぞれ、本発明の一体型分析要素を示す好ましい態様の拡大断面図である。第 4 , 5 , 6 及び 7 図はそれぞれ例で記載した要素を用いて得られた分析結果を示すグラフである。第 4 図で示す結果は対照でありそして第 5 , 6 及び 7 図のそれぞれで示す結果は本発明の要素を用いて得た分析結果である。

(60)

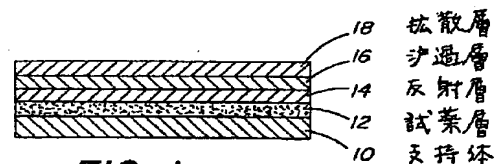


FIG. 1

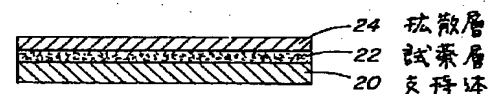


FIG. 2

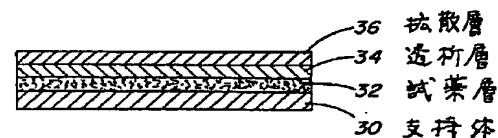


FIG. 3

(61)

FIG. 4

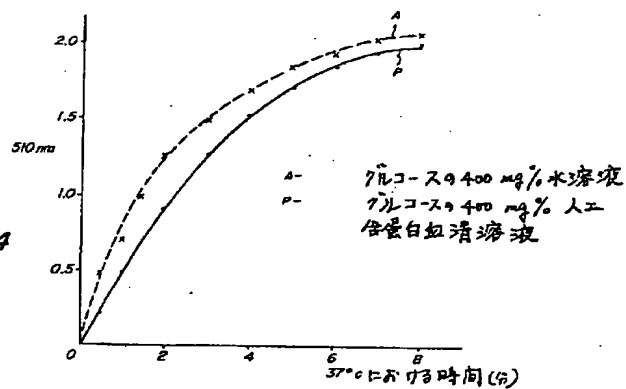


FIG. 6

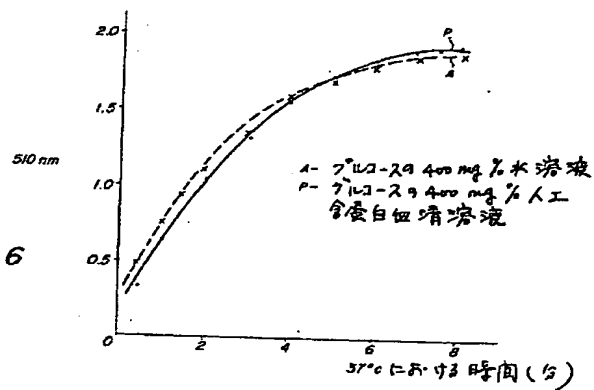


FIG. 5

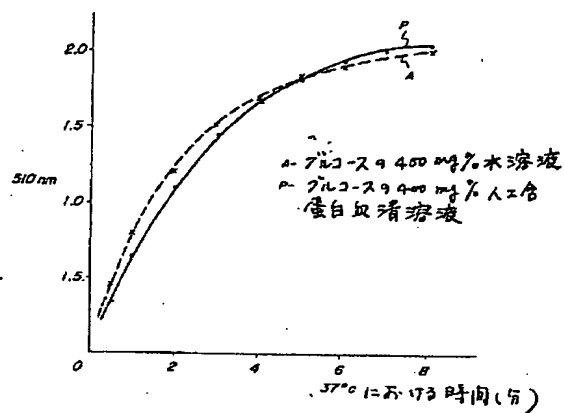
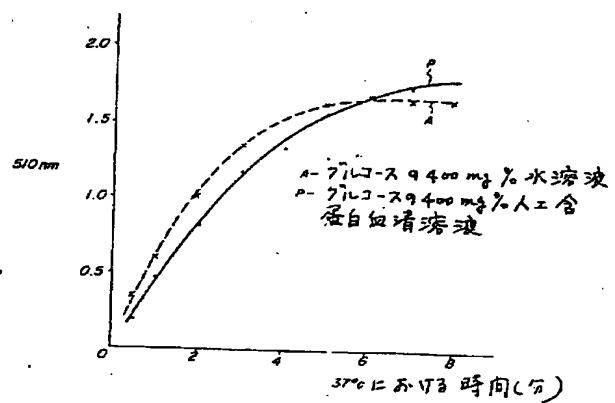


FIG. 7



THIS PAGE BLANK (USPTO)